Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. K. Kochsiek

Einfluß von Pyruvat auf den Protein- und Glykogenstoffwechsel bei akut-urämischen Ratten - toxische Effekte hoher Pyruvatdosen

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Wolfram von der Osten
aus Rotenburg (Wümme)

Würzburg, den 15. September 1982

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. K. Kochsiek

Einfluß von Pyruvat auf den Protein- und Glykogenstoffwechsel bei akut-urämischen Ratten - toxische Effekte hoher Pyruvatdosen

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Wolfram von der Osten
aus Rotenburg (Wümme)

Würzburg, den 15. September 1982

Referent:	Prof. Dr. A. Heidland
Korreferent:	Prof. Dr. K. Kochsiek
Dekan:	Prof. Dr. K.-A. Bushe

Tag der mündlichen Prüfung: 22.12.1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Meinen lieben Eltern

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543526_0017

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG
1.1 Akutes Nierenversagen:
a) Ursachen und Verlauf
b) Pathogenese
c) Bild der Urämie
1.2 Therapeutische Möglichkeiten zur Beeinflussung des Urämiesyndroms
1.3 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit - Stellung des Pyruvat im Intermediärstoffwechsel

2. METHODIK
2.1 Tierexperimentelle Methodik
2.2 Analytische Methodik

3. ERGEBNISSE
3.1 Überlebensrate
3.2 Verhalten des Körpergewichts
3.3 Verhalten der Blutglukose
3.4 Verhalten des Harnstoff-N
3.5 Verhalten des Serum-Natrium
3.6 Verhalten des Serum-Kalium
3.7 Verhalten des Serumpyruvats
3.8 Verhalten des Serumlactats
3.9 Verhalten des Leber-, Muskel- und Nierenproteins
3.10 Verhalten des Leber-, Muskel- und Nieren-gesamtkohlenhydratgehaltes
3.11 Verhalten des Glykogens in Leber, Muskel und Niere
3.12 Verhalten des Phosphats (auf Protein bezogen)
3.13 Verhalten der Glykogensynthetase (I- und D-Form)
3.14 Verhalten der Phosphorylase (a- und b-Form)

4. DISKUSSION

5. ZUSAMMENFASSUNG

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG

1.1 Das akute Nierenversagen ist eine unabhängig von renalen Grundkrankheiten kurzfristig entstandene reversible Niereninsuffizienz. Sie entsteht durch eine kritische Herabsetzung der renalen Ausscheidungsfunktion und ist bisher durch keine kausale Therapie zu beeinflussen. Sie durchläuft vier Stadien, das Initialstadium, die Oligoanurie, das polyurische Stadium und zum Schluß das Stadium der funktionellen Wiederherstellung.

a) Als Ursachen des akuten Nierenversagens sind zu 80 % die Schockniere zu nennen; sie entsteht durch Hypovolämie (Blutverlust, Plasmaverlust, Flüssigkeits-Elektrolytverluste), Verminderung des venösen Rückstroms zum Herzen (mechanisch durch Thrombosen, neurogen-reflektorisch durch Eingeweideperforationen, toxisch und allergisch-anaphylaktisch durch Endotoxin oder artfremdes Eiweiß)und durch kardiogenen Schock (verminderte Förderleistung des Herzens, verminderte Herzfüllung).

Toxische Ursachen nehmen etwa 15 - 20 % in Anspruch. Es sind zu nennen: endogene Toxine (Hämolysen, Myolysen) und exogene Toxine (Medikamente). 3 % Anteil am akuten Nierenversagen haben Nierenkrankheiten (Entzündungen, vaskuläre Nephropathien, intravenale Störungen).

b) Die Kreislaufzentralisation im Schock führt zu vasokonstriktorisch bedingter Minderung der Nierengesamtdurchblutung, die bis auf 10 % der Norm absinken kann. Die kortikale Niereninschämie führt zur Senkung des effektiven glomerulären Filtrationsdruckes bis auf Null und so zur Anurie. Dabei entstehen fokal disseminierte ischämische Tubulusläsionen, es wird somit die hypoxieempfindliche tubuläre Natriumresorption geschädigt, es kommt zur Erhöhung der Natriumkonzentration im frühdistalen Tubulusabschnitt, nahe der Macula densa. Dieser Natriumkonzentrationsanstieg führt unter Vermittlung der Macula densa im juxtaglomerulären Apparat zur einer Steigerung der enzymkinetischen Reninaktivität und so zur lokalen Angiotensinaktivierung,

aber auch zur Reninfreisetzung in den Gesamtkreislauf, es resultiert eine Drosselung der präglomerulären Vasa afferentia und damit weiter zu einer Senkung der glomerulären Filtration. Diese Filtratdrosselung hält so lange an, bis die ischämisch bedingte Schädigung der tubulären Natriumkonservierung abgeklungen ist und wird so zur Ursache der Azotämie und urämischen Intoxikation.

c) Das Urämiesyndrom zeigt eine Harnausscheidung von 20 - 100 ml/24 Std. Es kommt zur Retention von Schlackenprodukten des Eiweißstoffwechsels, nämlich Harnstoff, Harnstoff-N, Harnsäure und Kreatinin. Durch die Regulationsstörungen des Wasser- und Elektrolytenhaushaltes kommt es zur metabolischen Azidose, Hyperkaliämie und Erhöhung von Magnesium, Sulfat, Phosphat und organischen Säuren, Verminderung von Natrium, Chlor und Calcium. Es kommt zu Veränderungen des intermediären Zucker- und Fettstoffwechsels, zu einem erhöhten Eiweißabbau, Pseudodiabetes, Veränderung der Funktion der Schilddrüse, der Hypophyse und der Gonaden.

1.2 Die Therapie des akuten Nierenversagens besteht in einer hochkalorischen Ernährung mit Substitution essentieller und nicht essentieller Aminosäuren. Bei Anstieg des Harnstoff-N über 100 mg/dl ist die Indikation zur Dialysebehandlung gegeben. Die Prognose ist auf die Letalität bezogen ausgesprochen schlecht, mehr als 60 % der Patienten sterben. Das Hauptproblem dürfte die Beeinflußbarkeit der Katabolie sein. Der Hyperkatabolismus betrifft in erster Linie die Funktionsproteine, die schnell umgesetzten Enzymproteine der Leber, des Pankreas, der Nierentubuli und der Darmmucosa und des weiteren dann die Strukturproteine (71, 53).

In der diätetischen Therapie des Urämiesyndroms wird heute ein möglichst hoher Kaloriengehalt von mindestens 35 kcal/kg KG täglich gefordert. Dieser Energiebedarf kann bis zu 70 kcal/kg KG gesteigert werden (55).

Als Kalorienträger kommen Fette, Glukose, Zuckeraustauschstoffe (Fructose, Xylit, Sorbit) Äthanol und Aminosäuren

in Frage. Die Diät soll wenig Protein enthalten, da im ANV ein vermehrter endogener Proteinabbau stattfindet und somit durch Zufuhr von exogenem Protein das Urämiesyndrom verstärkt wird. Durch Proteolyse entstehende Urämietoxine verändern Enzymaktivitäten und erschweren den Membrantransport sowie die Membranpermeabilität (44).

In der Urämie ist die Glukoneogenese in Leber und Niere erhöht. Fröhlich und Mitarbeiter (22) perfundierten die Leber akut-urämischen Ratten mit verschiedenen Aminosäuren und fanden eine konzentrationsabhängige Stimulierung der Glukoneogenese. Die Harnstoffbildung läuft dabei der Glukoneogenesesteigerung parallel. Die Glukoneogenese der Leber kann in der Urämie durch den erhöhten Glukagonspiegel über das cyclische AMP aktiviert werden (5, 13, 46). Möglicherweise führt eine Erhöhung der cAMP-Konzentration im Cytoplasma zur Bildung von Phosphoenolpyruvat aus Pyruvat (14). cAMP fungiert auch bei der Lipolyse, Glykolyse und Glykogenolyse als "second messenger".

Unter optimaler Aminosäurenzusammensetzung 40 - 50 % essentielle AS, der Rest semiessentielle und nichtessentielle AS, reichen etwa 0,4 g/kg KG. Bei Dialysepatienten ist der tägliche Aminosäurenbedarf mit 0,8 g/kg KG und bei hyperkataboler Stoffwechselsituation mit 2 g/kg/24h gedeckt. Um die Stickstoffbelastung des Organismus mit der Zufuhr von Aminosäuren nicht übermäßig zu belasten, wurden bei chronischer Niereninsuffizienz Keto- und Hydroxyanaloge der essentiellen AS therapeutisch genutzt (70).

Zur hochkalorischen Ernährung bieten sich Glukose und Zukkeraustauschstoffe an. Glukose kann in allen Organen utilisiert werden, außerdem ist das zentrale Nervengewebe auf die Zufuhr von Glukose angewiesen, da es keine Fettsäuren direkt verwerten kann und auch keine Glykogenspeicher besitzt. Die Energiegewinnung erfolgt in den Nervenzellen praktisch vollständig über die Mitochondrien. Die Glykolyse dient ausschließlich der Bereitstellung von Pyruvat, nicht jedoch der anaeroben ATP-Synthese. In der Urämie ist

die Toleranz gegenüber Glukose vermindert, so daß es zu Hyperglykämien kommen kann. Dieses pseudodiabetische Stadium zeichnet sich durch Hyperglykämie und Hyperinsulinismus aus, neben reduziertem Leberglykogengehalt und gesteigerter Glukoneogenese. Aus diesem Grunde wird bei Auftreten einer Glukoseintoleranz auf Zuckeraustauschstoffe, wie Xylit, Fruktose oder Sorbit, umgesetzt. Diese Stoffe werden zu über 50 % in der Leber insulinunabhängig in Glukose umgewandelt (27) und protrahiert an das Blut abgegeben. Gefährliche Hyperglykämien können dadurch vermieden werden (3). Hyperbilirubinämie, Hyperuricämie und Hyperlactämie lassen sich vermeiden, wenn eine Infusionsgeschwindigkeit von 0,4 g/kg KG pro Stunde nicht überschritten wird (18). Eine hepatotoxische Wirkung der Zuckeraustauschstoffe scheint keine Bestätigung zu finden. Ein eventueller Abfall der Adenosinnucleotiden und des anorganischen Phosphats wird auf die ATP-verbrauchende Glykogensynthese zurückgeführt (19).

Der Hyperinsulinismus während der Niereninsuffizienz wird sehr wahrscheinlich durch eine vermehrte Insulininkretion oder vermindertem -abbau verursacht. Proteinrestriktion kann den Hyperinsulinismus und die Glukoseintoleranz bei experimentell induzierter Urämie normalisieren (66). Einige Organe sind in ihrem Glukosestoffwechsel weitgehend insulinunabhängig. Dazu zählen das Nervensystem, insbesondere das Gehirn, die roten Blutkörperchen und auch die Leber. Die Plasmamembran der Skelettmuskulatur und des Fettgewebes ist praktisch undurchlässig für Glukose. Diese Zellen können nur unter dem Einfluß von Insulin Glukose aufnehmen und als Glykogen bzw. Fett speichern oder Glukose oxidieren. Die Leberzelle ist frei permeabel für Glukose. Die Speicherung der Glukose in Form von Glykogen ist der insulinabhängige Prozeß. Insulin stimuliert die Aktivität der Glukokinase, welche in der Leber die Glukose phosphoryliert, und der Glykogensynthetase, welche Glukose-6-P in Glykogen überführt (1). Antagonisiert wird Insulin von Katecholaminen, Glukagon, STH und Corticosteroiden, die eine

Aufnahme von Glukose in peripheren Geweben hemmen, die Glykolyse fördern über die Aktivierung der Phosphorylase den Glykogenabbau induzieren und somit die urämische Hyperglykämie begünstigen (2, 11, 12, 22, 33, 72).

In der Leber, Muskel und Niere wird im akuten Nierenversagen Glykogen abgebaut, gleichzeitig jedoch die Glukoneogenese in Leber und Niere stimuliert. Metabolite und Hormone wirken auf die Schlüsselenzyme des Glykogenstoffwechsels, Phosphorylase und Glykogensynthetase. Beide Enzyme liegen in zwei verschiedenen Formen unterschiedlicher Aktivität vor. Beide werden durch Kinasen phosphoryliert. Die Phosphorylase wird durch die Phosphorylierung aktiviert, die Glykogensynthetase dagegen inaktiviert. Die Glykogensynthetase I (independent) ist in Abwesenheit von Glukose-6-P aktiv, die D-Form (dependent) ist phosphoryliert. Die Phosphorylase a ist die phosphorylierte aktive Form, während die nicht phosphorylierte Form b genannt wird (20). Die Phosphorylierung geschieht durch einen Kaskadenmechanismus. Über cAMP wird die Aktivität der Proteinkinase, auch Phosphorylasekinase-Kinase genannt, stimuliert, welche Phosphorylasekinase aktiviert, die ihrerseits die Phosphatübertragung von ATP auf Phosphorylase katalysiert. Andererseits inaktiviert die Proteinkinase durch Phosphorylierung die Glykogensynthetase (35).

In der Katabolie bieten sich auch Fettemulsionen für die hochkalorische parenterale Ernährung an. So können viele Kalorien in relativ kleinen Flüssigkeitsvolumen, ohne Beeinflussung der Blutosmolarität und ohne vermehrte Freisetzung von Insulin infundiert werden (11). Unverträglichkeitsreaktionen, Lipämien, Blockaden des RES durch die Speicherung von überschüssigem Fett, Beeinträchtigung der Leberfunktion und Blutgerinnung können auftreten; bei richtiger Dosierung (0,5 g/kg KG und Tag - 1,5 g/kg KG und Tag) und Infusionsgeschwindigkeit können diese Nebenwirkungen nahezu vermieden werden (1).

1.3 Zielsetzung:

Das nachfolgende Experiment urämische Ratten mit verschiedenen Dosen von Pyruvat zu füttern, soll untersuchen, in wie weit die orale Gabe von Pyruvat die Glukoneogenese bei experimenteller Urämie zu beeinflussen vermag. Durch ein vermehrtes Angebot von Pyruvat könnte der Aminosäuren- und Proteinabbau überwiegend aus den lebensnotwendigen Enzymen der Leber, Niere, Pankreas, Darmmucosa usw. eingedämmt werden. Pyruvat ist das Ketoanaloge von Alanin, welches als wesentlichste Aminosäure für die Glukoneogenese in der Leber gilt (15). Diese Aminosäure wird in der Leber in größerem Ausmaß aufgenommen als jede andere Aminosäure, außerdem wird sie am meisten vom Muskel freigesetzt. Veränderungen der Alaninabgabe aus dem Muskel und der Alaninaufnahme in die Leber sind wichtige Faktoren der hepatischen Glukoneogenese und des Proteinabbaus während prolongierten Fastens (16, 17).

2. METHODIK

2.1 Tierexperimentelle Methodik

Die Versuchstiere waren weibliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 180 - 200 Gramm, die vor Anlaufen des Experiments mit Wasser und fester Nahrung ad libidum versorgt waren. Der erste Arbeitsgang beinhaltete das Narkotisieren mit Äther, das Wiegen und die Operation der Versuchstiere. Zu jeder Versuchsreihe gehörten 15 Tiere, die in drei Gruppen von je 5 Tieren wie folgt behandelt wurden:

5 Tiere (Kontrollgruppe) wurden scheinoperiert; es wurde ein dorsaler 3 - 4 cm langer Rückenmedianschnitt angelegt und die Muskeln beidseits neben der Wirbelsäule auf einer Länge von 1 - 2 cm gespalten.

Bei den nächsten 5 Tieren wurde die gleiche Operationstechnik durchgeführt und eine obere Ureterenligatur beidseits angelegt.

5 Tiere der dritten Gruppe wurden mit der gleichen Operationstechnik binephrektomiert.

Die Operationsschnitte wurden nach der Operation durch einen Gewebekleber (Histoacryl®) verschlossen.

Fütterung

Jede Versuchsreihe hatte ihre eigene Pyruvat-Konzentration und auch unterschiedlich lange Versuchsdauer. Die nachstehend aufgeführten Pyruvat-Konzentrationen C 1, C 2 und C 3 wurden jeweils den entsprechenden Tiergruppen verabreicht, wobei die Versuche über 12 Std., 28 Std. oder 44 Std. liefen. Die erste Fütterung erfolgte direkt nach dem Eingriff (Zeitpunkt O) und wurde im Abstand von 8 Stunden mittels Schlundsonde weitergeführt.

Pyruvat wurde als Natriumsalz verwendet und in 1 ml H_2O pro Tier gelöst. Wir verwandten folgende Pyruvat-Konzentrationen:

C 1	1,2	g Pyruvat / 15 Tiere in 24 Std., entsprechend
	0,4	g Pyruvat / kg KG in 24 Std., entsprechend
	0,08	g Pyruvat / Tier in 24 Std., entsprechend
	0,026	g Pyruvat / pro Tier pro 8 Std.
C 2	6	g Pyruvat / 15 Tiere in 24 Std., entsprechend
	2	g Pyruvat / kg KG in 24 Std., entsprechend
	0,4	g Pyruvat / Tier in 24 Std., entsprechend
	0,13	g Pyruvat / pro Tier pro 8 Std.
C 3	30	g Pyruvat / 15 Tiere in 24 Std., entsprechend
	10	g Pyruvat / kg KG in 24 Std., entsprechend
	2	g Pyruvat / Tier in 24 Std., entsprechend
	0,67	g Pyruvat / pro Tier pro 8 Std.

4 Stunden nach der letzten Fütterung wurden die Versuchstiere leicht narkotisiert, gewogen und aus dem retroorbitalen Venenplexus Blut entnommen. Nach Tötung durch Ätherüberdosierung erfolgte dann die Organentnahme von Leber, Nieren (soweit vorhanden) und Musculus quadriceps femoris. Diese Organpräparate wurden sofort bei -30° C tiefgefroren bis zur späteren Auswertung.

2.2 Analytische Methodik

I) Blut

Aus dem Serum wurden Blutglukose, Harnstoff-N, Na^+ und K^+ automatisiert nach Routinemethoden ermittelt.

Zur Bestimmung von Pyruvat wurde die Methode nach Czock und Lamprecht (1974) angewandt.

Prinzip: Pyruvat + NAHD $\xleftarrow{\text{LDH}}$ L-Lactat + NAD^+

Reagentien:

Puffer (Trikaliumphosphat)	0,7 mol/l
NADH	2,5 mmol/l
LDH	$\geq$ 900 U/ml

Das Blut wurde mit eiskalter 1 N Perchlorsäure (4 ml Blut und 4 ml Perchlorat) enteiweißt und das Reagenz dann etwa 10 min bei 3000 rpm zentrifugiert. Vom Überstand wurden 4 ml mit 2 ml Puffer vermischt und 15 min ausgekühlt. Das Gemisch wurde dann durch einen Faltenfilter filtriert. Auf 2 ml Filtrat gaben wir 0,2 ml NADH. Danach wurde die erste Extinktion E_1 bei 365 nm gemessen. Nach weiterer Gabe von 0,02 ml LDH und Stillstand der Reaktion wurde die zweite Extinktion E_2 gemessen.
Die Differenz $E_1 - E_2$ ergab den Faktor, der mit 905 multipliziert wurde. Daraus errechnete sich die Konzentration in µmol/l.

Zur Bestimmung von Lactat wurde die Methode nach Gutmann und Wahlefeld (1974) angewandt.

Prinzip: L-Lactat + NAD^+ $\xleftarrow{\text{LDH}}$ Pyruvat + NADH + H^+

Reagentien: Puffer/Hydrazin

Glycinpuffer	0,5 mol/l pH 9,0
Hydrazin	0,4 mol/l
NAD	27 mmol/l
LDH	$\geq$ 650 U/ml

Das Blut wurde mit 0,6 N eiskalter Perchlorsäure enteiweißt (0,5 ml Blut und 1,0 ml Perchlorat) und dann zirka 10 min bei 3000 rpm zentrifugiert. Zu 0,20 ml vom Überstand wurden dann 2 ml des Puffergemischs gegeben, danach 0,20 ml NAD und als letztes 0,02 ml LDH. Für jede Meßreihe wurde

ein Leerwert angefertigt (Puffergemisch 2 ml, Perchlorat 0,20 ml, NAD 0,20 ml und LDH 0,02 ml). Nach Inkubation von 60 min in einem Wasserbad (25° C) wurden die Extinktionen gegen den Leerwert gemessen. Dies ergab dann die Differenzextinktion.
Die verwendete Wellenlänge betrug 365 nm. Die Konzentration von Lactat in der Probe ließ sich dann wie folgt berechnen:

c (mg/100 ml) 91,3 x Extinktionsdifferenz
c (mmol/l) 10,1 x Extinktionsdifferenz.

II) Auswertung der Organe

Herstellung des Rohextraktes
Jedes einzelne tiefgefrorene Organpräparat wurde mit 2,5 ml 4 mM EDTA pH 7,0 (4° C) homogenisiert. Die Suspension wurde dann bei 10 000 g für 15 min ultrazentrifugiert. Der Überstand wurde in Eis gekühlte Extraktbehältnisse zur weiteren Bestimmung dekantiert.

Proteinbestimmung nach Lowry et al. (1951)
Reagentien:
A: 2 % $Na_2 CO_3$ in 0,1 N NaOH
B: 0,5 % $CuSO_4 \times 5 H_2O$
C: 1 % Natrium-Kalium-Tartrat
D: 48 ml von A mit 1 ml von C versetzen, dann 1 ml von B
E: Folin-Reagenz (mit aqua dest. 2-fach verdünnt)
Zur Durchführung wurden 0,5 ml der Probe mit 5 ml Reagenz D vermischt. Nach genau 10 min wurden 0,5 ml E zugegeben und dann bei 578 nm die Extinktion gemessen. Für die Ermittlung eines Standarts diente eine Eichkurve mit Rinderserumalbumin in einer Konzentration von 50 - 500 µg/ml.

Glykogenbestimmung modifiziert nach Montgomery (1957)
Zu 0,9 ml Rohextrakt wurden 0,1 ml 50 % Trichloressigsäure (TCA) gegeben und nach kräftigem Schütteln 10 min bei 4° C inkubiert. Danach wurden die Proben in einer Tischzentrifuge bei maximaler Umdrehungszahl 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde zu 2,2 ml 96 % Äthanol gegeben und

wiederum nach kräftigem Schütteln 10 min bei 4° C inkubiert. Danach wurde wieder mit der Tischzentrifuge 15 min zentrifugiert.
Der Überstand wurde verworfen,
der Niederschlag wurde in 2 ml H_2O aufgenommen.
Dann wurden 0,2 ml 40 % Phenol und 5 ml konz. H_2SO_4 dazugegeben und kräftig geschüttelt.
Nach 30 Minuten konnte bei 492 nm die Extinktion der Proben im Photometer abgelesen werden.

Bestimmung des Gesamtkohlenhydratgehaltes

Gegenüber der Glykogenbestimmung entfällt die Glykogenpräzipitation mit Äthanol. Das Vorgehen ist sonst identisch mit der Glykogenbestimmung.

Glykogensynthetase-Aktivitätstest nach Thomas et al.(1968)
Reagentien:

A: 3,75 mM ^{3}H-UDP-Glukose
(21,2 mg UDP-Glukose auf 10 ml aqua dest. + 0,1 ml ^{3}H-UDP-Glukose)

B: Stammlösung zur Bestimmung der D- und I-Form
4 ml 0,625 M Tris/HCl, 0,0125 M EDTA, 0,156 M $MgCl_2$, pH 7,6
2 ml 0,0625 M Glukose-6-Phosphat

C: Stammlösung zur Bestimmung der I-Form
4 ml 10 % Glykogen
4 ml 0,625 M Tris/HCl, 0,0125 M EDTA, 0,156 M $MgCl_2$, pH 7,6
2 ml aqua dest.

Ansatz:
100 µl ^{3}H-UDP-Glukose wurden mit 50 µl Probe und 20 µl Stammlösung B bzw. C bei 30° C inkubiert. Nach 3 min wurde jeweils ein aliquot von 50 µl auf ein Whatman-Filterplättchen gegeben und die Plättchen anschließend für 20 min (ohne Rühren !) in 66 % Äthanol (0° C) getaucht, danach für 10 min in frische Äthanollösung und 5 min in Aceton inkubiert. Nach Trocknen der Plättchen wurden sie in Szintillationsgläschen gegeben und mit je 5 ml Rotiszint 11

(Fa. Roth) versetzt.

Leerwert: Leeres Filterplättchen in der Badeflüssigkeit (cpm_o)

Totalwert: 50 µl ^{3}H-UDP-Glukose auf ein Filterplättchen (cpm_{total})

$$\text{Einheiten Synthetase/min/mg} = \frac{cpm_{(Probe)} \times 187{,}5 \times 20}{3 \times cpm_{total} \times \text{mg/ml Protein}}$$

Phosphat und Phosphorylasebestimmung (a und b)

Zeichenerklärung: a = aktive Form
b = inaktive Form

Reagentien: Verdünnungspuffer 20 mM Tris
pH 6,8 50 mM NaF
20 mM Mercaptoäthanol

STOP: 2000 ml H_2O
+ 7,5 g Ammoniumheptamolybdat
+ 2,7 ml SDS 10 %
+ 42 ml H_2SO_4konz.
auffüllen auf 2700 ml mit H_2O

ANSA: 148,7 g $NaHSO_3$
5,0 g Na_2SO_3
2,5 g ANSA
auf 4000 ml H_2O auffüllen

ST-Reagenz für Phosphorylase a: (für 125 ml)
50 ml Na-Maleat (250 mM) pH 6,8
2,5 g Glykogen (AMP-frei)
7,05 g Glukose-1-Phosphat
pH mit HCl auf 6,8 stellen und mit H_2O auf 125 ml auffüllen

CT-Reagenz für Phosphorylase b: (für 125 ml)
CT Leber und Niere wie ST plus
28,19 g Na_2SO 4 (0,7 m)
CT Muskel 122,5 ml ST plus
2,5 ml 0,1 M AMP pH 7,0

Die Verdünnung der Phosphatprobe wurde mit 1:10, der Phosphorylase a mit 1:20 und der Phosphorylase b mit 1:50 angegeben.

Jede Probe wurde zu 0,1 ml einpipettiert. Zu den Phosphatproben wurde dann jeweils 0,1 ml H_2O hinzugegeben, zur Bestimmung der Phosphorylase a alle 15 Sekunden 0,1 ml ST, für die Messung der Phosphorylase b alle 15 Sekunden 0,1 ml CT (abhängig von den Organen).

Nach 10 Minuten wurde jede Probe mit 4,5 ml STOP und 0,25 ml ANSA inkubiert. 30 Minuten danach konnten wir die Extinktion bei 578 nm im Photometer ablesen.

Vor der Ablesung wurden noch folgende Werte gemessen:

Standard:	100 µl Phophatpuffer (160 nM)
	100 µl Verdünnungspuffer
Leerwert:	100 µl H_2O
	100 µl Verdünnungspuffer
ST:	100 µl ST
	100 µl Verdünnungspuffer
CT:	100 µl CT
	100 µl Verdünnungspuffer

Phosphatberechnung:

Standardextinktion = 160 nM
Extinktion Probe = X

$$\frac{X \times \text{Verdünnung} \times 10}{\text{Protein}} = \text{Phosphat nMol/mg.}$$

Phosphorylaseberechnung:

Von den jeweils gemessenen Extinktionen wurde die E (CT) bzw. E (ST) abgezogen. Mit diesem Wert wurde zunächst das Phosphat berechnet.

$$\frac{\text{Phosphatwert x Verdünnung (Phosphoryl. a od. b)} - \text{obigen Phosphatwert x 10}}{10 \text{ min} \times \text{mg (Protein)}}$$

Benennung: nMol/min/mg.

3. ERGEBNISSE

Im folgenden Abschnitt sind die Ergebnisse des Tierversuches als Mittelwerte ± Standardabweichung aufgeführt. Eine Versuchsreihe besteht aus jeweils 15 Tieren, 5 scheinoperierten, 5 ureterlegierten, 5 binephrektomierten, die nach jeweils 12 Stunden, 28 bzw. 44 Stunden getötet wurden. Bei allen Tieren wurden Überlebensrate, Körpergewicht, Blutglukose, Harnstoff-N, Na^+, K^+, Serum-Pyruvat und Serumlactat bestimmt. In Leber, Skelettmuskel und Niere wurden Protein, Gesamtkohlenhydrate, Glykogen, Glykogensynthetase (I- und D-Form) und Phosphat unter Verfütterung verschiedener Pyruvatkonzentrationen ermittelt.

3.1 Überlebensrate

a) Die Überlebensrate der scheinoperierten Tiere (n = 5 pro Zeitabschnitt) ist bei der Verfütterung der niedrigsten Pyruvatkonzentration 100 %. Die 12-Std., 28-Std. und 44-Std.-Tiere überlebten ohne erkennbare Besonderheiten. Die Ureterlegierten und Binephrektomierten überlebten ebenfalls bis zum Ende der jeweiligen Versuchszeiten, machten jedoch einen somnolenten Eindruck, ihre Abdomen waren aufgequollen.

b) Bei der Verfütterung der mittleren Pyruvatkonzentration überlebten alle scheinoperierten Tiere. Bei den Ureterlegierten gab es je einen Ausfall bei den 12-Std.und bei den 44-Std.-Tieren. Keinen Ausfall gab es dagegen bei den Binephrektomierten, allerdings machten die fünf 44-Std.-Tiere einen sehr geschwächten und kranken Eindruck.

c) Bei der höchsten Pyruvatkonzentration überlebten alle fünfzehn 12-Std.-Tiere. Bei den 28-Std.-Tieren verendeten zwei von den Scheinoperierten, zwei von den Ureterlegierten und vier von den Binephrektomierten vor Ablauf der 28 Stunden. Von den 44-Std.-Tieren überlebte keine Ratte. Sie starben alle zwischen der 20. und 44.Stunde. Die Tiere zeigten ein struppiges Fell, ein aufgetriebenes Abdomen und eine Streckstellung der Extremitäten.

3.2 Verhalten des Körpergewichts

Generell kann festgehalten werden, daß alle Versuchstiere mehr oder weniger stark abgenommen haben. Dies betrifft besonders die Scheinoperierten, die mit zunehmender Versuchsdauer und steigender Pyruvatdosis hohe Gewichtsverluste zeigten.

a) Unter der niedrigsten Pyruvatdosis nehmen die Scheinoperierten nach 12 Stunden im Schnitt 4,4 %, nach 28 Std. 7 % und nach 44 Std. 14,5 % ab. Nicht ganz soviel verlieren die Ureterlegierten: 2,5 % nach 12 Std., 3,3 % nach 28 Std. und 3,6 % nach 44 Std. Bei den Binephrektomierten ergeben sich ähnliche Werte: bei 12 Std. 3,2 %, bei 28 Std. 4 % und bei 44 Std. 3,8 %.

b) Bei der mittleren Pyruvatdosis finden wir ähnliche Werte. Die 12-Std.-Tiere haben einen Gewichtsverlust von 3,6 %, die 28-Std.-Tiere einen von 9,4 % und die 44-Std.-Tiere einen von 14,3 %. Die Ureterlegierten zeigen nach 12 Std. 1,1 % Gewichtsabnahme, nach 28 Std. 3,1 % und nach 44 Std. 5,5 %. Die Binephrektomierten zeigen ähnliche Werte (4,9 %, 3 % und 3,3 %).

c) Unter der höchsten Pyruvatdosis nehmen die scheinoperierten Ratten gewaltig ab: nach 12 Std. 6 % und nach 28 Std. 11,7 %. Die ureterlegierten Ratten verlieren O,3 % nach 12 Std. und 1,4 % nach 28 Std., die Binephrektomierten 1,6 % und 4,5 %.

3.3 Verhalten der Blutglukose

Bei der niedrigsten Pyruvatdosis zeigen die scheinoperierten, ureterlegierten und binephrektomierten Ratten ähnliche Blutglukose-Werte, die mit Zunahme der Versuchsdauer langsam abfallen. Ausnahme ist hier nur der 44-Std.-Wert der Ureterlegierten.

Die Scheinoperierten haben bei mittlerer Pyruvatdosierung ähnliche Blutglukose-Werte wie bei der niedrigen Dosis. Die ureterlegierten wie auch die binephrektomierten Tiere

zeigen nach 28 Std. einen starken Anstieg der Blutglukose, der sich nach 44 Std. nochmals erhöht.

Unter Fütterung der höchsten Pyruvatdosis zeigen sowohl die Scheinoperierten, Ureterlegierten als auch die Binephrektomierten erhöhte Blutglukose-Werte bereits nach 12 Std., die nach 28 Std. noch weiter ansteigen. Die 44-Std.-Werte sind nicht zu erheben, da die Tiere vorzeitig starben.

Tabelle 1: Verhalten der Blutglukose (mg/dl)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	96,4 ± 4,0	75,6 ± 6,9	72,4 ± 4,0
UL	C 1	88,4 ± 6,9	87,2 ± 8,3	89,0 ± 7,6
NE	C 1	96,0 ± 6,3	92,0 ±11,7	83,2 ±20,4
SOP	C 2	90,0 ± 4,9	89,7 ± 4,0	72,0 ±10,2
UL	C 2	88,6 ± 9,8	132,0 ±19,6	162,0 ±29,1
NE	C 2	93,6 ± 5,4	123,0 ± 9,5	201,0 ±29,4
SOP	C 3	123,3 ±19,0	146,0 ±20,1	+
UL	C 3	108,8 ±18,7	145,3 ±25,2	+
NE	C 3	106,4 ±15,4	148,0 ±10,1	+

3.4 Verhalten des Harnstoff-N

a) Die scheinoperierten Tiere der Gruppe C 1 zeigen nach 12 Std. einen Wert von 20,6 ± 2,0 mg/dl, der nach 28 Std. auf 14,9 ± 3,5 mg/dl fällt, um nach 44 Std. wieder auf 17,4 ± 2,3 mg/dl anzusteigen. Bei den Ureterlegierten und Nephrektomierten sind schon die 12-Std.-Werte mit 119 ± 7,4 mg/dl bzw. 117 ± 13,0 mg/dl stark erhöht, sie steigen nach 28 Std. weiter auf 228 ± 16,0 mg/dl bzw. 252 ± 11,5 mg/dl und erreichen nach 44 Std. 332 ± 35,5 mg/dl bzw. 343 ± 37,3 mg/dl.

b) Beim Verfüttern der mittleren Pyruvatdosis C 2 zeigen die scheinoperierten Ratten nach 12 Std. 16,9 ± 1,2 mg/dl, nach 28 Std. 22,3 ± 5,7 mg/dl und nach 44 Std. einen Wert von 20,5 ± 4,0 mg/dl. Die Ureterlegierten und Nephrektomierten zeigen wieder ein ähnliches Verhalten: nach 12 Std.

liegt der Harnstoff-N bei 130 ± 5,8 mg/dl bzw. 124 ± 10,8 mg/dl, nach 28 Std. bei 244 ± 24,3 mg/dl bzw. 256 ± 22,7 mg/dl und nach 44 Std. bei 290 ± 24,5 mg/dl bzw. 286 ± 13,4 mg/dl.

c) Die höchste Pyruvatdosis C 3 zeigt bei den Scheinoperierten sehr niedrige Harnstoff-N-Werte: 10 ± 0,9 mg/dl nach 12 Std. und 11 ± 1,5 mg/dl nach 28 Std.. Die Ureterlegierten und Nephrektomierten haben ähnliche 12-Std.-Werte wie beim Verfüttern der mittleren Pyruvatdosis (Ureterlegierte 131 ± 6,5 mg/dl, Nephrektomierte 141 ± 16,7 mg/dl). Die 28-Std.-Werte liegen bei den Ureterlegierten mit 190 ± 15,5 mg/dl und bei den Nephrektomierten mit 200 ± 18 mg/dl etwas niedriger.

3.5 Verhalten des Serum-Natrium

a) bei der niedrigen Pyruvatdosis C 1 steigen bei allen Versuchstieren die Natrium-Werte langsam mit der Dauer des Versuchs an. Lediglich bei den Ureterlegierten fällt das Serum-Natrium nach 44 Std. von 144 auf 139 mmol/l.

b) Die Scheinoperierten zeigen bei der mittleren Pyruvatdosis C 2 konstant leicht erhöhte Natrium-Werte, während bei den Ureterlegierten, wie auch bei den Binephrektomierten schon nach 12 Stunden ein erhöhtes Plasma-Natrium auffällt. Die Natrium-Werte steigen bis zur 44. Stunde weiter erheblich an.

Tabelle 2: Verhalten des Serum-Natrium (mmol/l)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	131,0 ± 1,6	143,8 ± 3,1	151,4 ± 3,4
UL	C 1	134,0 ± 2,0	144,0 ± 4,5	139,0 ± 2,8
NE	C 1	141,0 ± 3,3	144,0 ± 1,8	150,0 ± 6,3
SOP	C 2	142,0 ± 1,7	146,6 ± 2,5	142,8 ± 3,7
UL	C 2	163,0 ± 7,1	160,0 ± 1,5	174,0 ± 5,6
NE	C 2	167,0 ± 2,9	164,0 ± 2,4	193,6 ± 7,3

c)
Die höchste Pyruvatdosis C 3 führt bei den scheinoperierten Tieren nach 12 Stunden zu einem Natrium-Wert von 138,2 mmol/l, der sich nach 28 Std. auf 186,6 mmol/l erhöht. Die Ureterlegierten und Nephrektomierten zeigen 28-Std.-Werte von 204 mmol/l.

3.6 Verhalten des Serum-Kalium

a) Bei der niedrigsten Pyruvatdosis C 1 zeigen die verschieden operierten Tiere ähnliche Kalium-Werte, die mit der Versuchsdauer meist ansteigen. Bei den Ureterlegierten übertrifft das Plasma-Kalium die Werte der Binephrektomierten.

b) Bei der mittleren Pyruvatdosis C 2 sieht man ein ähnliches Verhalten der Kalium-Werte. Überraschenderweise sind alle 44-Std.-Werte deutlich niedriger als bei der Verfütterung der niedrigen Pyruvatdosis.

Tabelle 3: Verhalten des Plasma-Kalium (mmol/l)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	6,1 ± 0,7	5,0 ± 0,9	7,3 ± 0,9
UL	C 1	6,7 ± 0,8	6,8 ± 0,9	10,3 ± 1,5
NE	C 1	5,5 ± 1,0	7,1 ± 0,2	7,9 ± 0,7
SOP	C 2	5,2 ± 0,2	5,7 ± 0,4	4,8 ± 0,4
UL	C 2	6,8 ± 0,4	7,4 ± 0,8	7,6 ± 1,7
NE	C 2	5,7 ± 0,6	7,1 ± 0,6	6,7 ± 0,9

c) Die höchste Pyruvatdosis C 3 führt bei den Scheinoperierten zu einem höheren Plasma-Kalium als die beiden schwächeren Pyruvatdosen. Der 12-Std.-Wert der Scheinoperierten beträgt 6,3 ± 1,1 mmol/l und der 28-Std.-Wert 6,9 ± 0,9 mmol/l. Die Ureterlegierten und Nephrektomierten zeigen einen 12-Std.-Wert von 6,0 ± 0,3 mmol/l bzw. 4,9 ± 0,3 mmol/l und einen Anstieg auf 7,6 ± 0,5 mmol/l bzw. 9,2 ± 0,5 mmol/l nach 28 Stunden.

3.7 Verhalten des Serumpyruvats

a) Alle Tiere der Gruppe C 1 zeigen einen fallenden Pyruvatspiegel, wobei die Scheinoperierten den höchsten 12-Std.-Wert besitzen. Nur der 28-Std.-Wert bei der ureterlegierten Tiergruppe fällt mit dem Wert 141,1 µmol/l aus den fallenden Pyruvatspiegeln.

b) Bei der mittleren Pyruvatdosis C 2 ist wiederum der 12-Std.-Wert der Scheinoperierten im Vergleich zu den beiden anderen Versuchsgruppen am höchsten. Auch hier fällt der Pyruvatspiegel bei den Scheinoperierten stark ab, im Gegensatz dazu steigt der Pyruvatspiegel bei den Ureterlegierten und Nephrektomierten nach einem Abfall nach 28 Stunden auf einen deutlich höheren 44-Std.-Wert an.

Tabelle 4: Verhalten des Serumpyruvats (µmol/l)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	176,4 ±38,0	151,6 ±31,4	146,9 ±34,2
UL	C 1	132,0 ±10,5	141,1 ±21,2	121,2 ±11,3
NE	C 1	145,0 ±36,7	128,3 ±18,4	101,1 ±15,4
SOP	C 2	211,7 ±35,1	154,2 ±30,7	131,0 ±22,5
UL	C 2	180,0 ±31,7	144,8 ±31,1	172,3 ±30,7
NE	C 2	193,0 ±34,3	170,8 ±32,5	178,6 ±33,6

c) Die Scheinoperierten zeigen auch unter der höchsten Pyruvatdosis C 3 wieder den höchsten 12-Std.-Wert von 252,0 ± 44,2 µmol/l im Vergleich zu den anderen Versuchsgruppen. Der 28-Std.-Wert steigt auf 356,2 ± 13,7 µmol/l an. Die Ureterlegierten und Nephrektomierten zeigen nach 12 Stunden 142,7 ± 8,4 µmol/l bzw. 108,0 ± 23,8 µmol/l, die explosionsartig auf einen 28-Std.-Wert von 361,0 ± 39,1 µmol/l bzw. 332,1 ± 29,5 µmol/l ansteigen.

3.8 Verhalten des Serum-Lactats

a) Die drei Versuchsgruppen zeigen bei der niedrigsten Pyruvatdosis C 1 alle einen hohen 12-Std.-Wert, der auf einen

niedrigeren 28-Std.-Wert abfällt, um dann erneut auf einen höheren 44-Std.-Spiegel anzusteigen.

b) Die mittlere Pyruvatdosis C 2 führt zu gegensinniger Verschiebung. Jetzt liegen die 12-Std.-Werte tiefer als die 44-Std.-Werte. Die niedrigsten Lactatspiegel findet man auch hier bei den 28-Std.-Tieren. Eine Ausnahme bildet nur die nephrektomierte Gruppe, die einen 28-Std.-Wert von 1,98 ± 0,4 mmol/lbesitzt, der dann nach 44 Stunden auf 1,87 ± 0,4 mmol/l sinkt.

Tabelle 5: Verhalten des Serum-Lactats (mmol/l)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	2,57 ± 0,5	1,71 ± 0,2	1,94 ± 0,4
UL	C 1	2,63 ± 0,4	1,42 ± 0,2	1,77 ± 0,3
NE	C 1	2,04 ± 0,3	1,09 ± 0,2	1,51 ± 0,3
SOP	C 2	1,53 ± 0,3	1,38 ± 0,3	2,15 ± 0,4
UL	C 2	1,83 ± 0,4	1,39 ± 0,2	2,50 ± 0,3
NE	C 2	1,87 ± 0,3	1,98 ± 0,4	1,87 ± 0,4

c) Bei der hohen Pyruvatdosis C 3 zeigen die Scheinoperierten nach 12 Std. wie auch nach 28 Std. ähnliche Werte (5,43 ± 0,9 mmol/l und 5,61 ± 1,6 mmol/l). Etwas anders verhält sich der Serum-Lactat-Spiegel bei den Ureterlegierten und Nephrektomierten, der nach 12 Std. deutlich niedriger liegt wie bei den Scheinoperierten (2,51 ± 0,5 mmol/l bzw. 1,91 ± 0,4 mmol/l). Nach 28 Stunden liegt der Spiegel bei den Ureterlegierten dann um 8,9 ± 2,0 mmol/l und bei den Nephrektomierten bei 4,4 ± 0,5 mmol/l.

3.9 Verhalten des Leber-, Muskel-und Nierenproteins

I. Leberprotein

a) Bei der niedrigsten Pyruvatdosis C 1 bleibt der Leberproteingehalt der scheinoperierten Tiere konstant. Die Ureterlegierten und Nephrektomierten haben jeweils einen niedrigeren 12-Std.-Wert, der aber bis zur 44.Stunde ansteigt.

b) Die mittlere Pyruvatdosis C 2 führt bei den scheinoperierten Tieren zu einem niedrigeren Leberproteingehalt, er bleibt über die drei Versuchszeiten konstant. Bei den Ureterlegierten wie auch bei den Nephrektomierten ist ein Proteinanstieg zu verzeichnen, ähnlich wie bei den Tieren mit der niedrigen Pyruvatdosis.

Tabelle 6: Verhalten des Leberproteins (mg/ml)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	56,2 ±13,0	56,6 ±10,7	51,0 ±10,7
UL	C 1	49,7 ± 7,9	62,8 ±13,3	67,8 ± 7,0
NE	C 1	38,3 ± 7,5	56,9 ± 6,0	43,3 ± 7,2
SOP	C 2	48,4 ± 6,2	48,0 ± 8,3	48,4 ± 0,6
UL	C 2	45,9 ± 8,5	49,1 ± 4,0	55,1 ± 9,7
NE	C 2	52,4 ± 7,5	62,3 ± 7,0	59,4 ±11,2

c) Die höchste Pyruvatdosis C 3 führt bei den Scheinoperierten zu konstantem 12- und 28-Std.-Leberproteingehalt (45 ± 2,5 mg/ml), dagegen finden wir bei den Ureterlegierten und Nephrektomierten nach 12 Stunden einen Proteingehalt in der Leber von 70 ± 10,1 mg/ml, der dann nach 28 Stunden auf 47 ± 8,0 mg/ml absinkt.

II. Muskelprotein

a) Der Muskelproteingehalt der Versuchstiere C 1 hält sich bei den Scheinoperierten bei den 12- und 44-Std.-Tieren auf gleichem Niveau, die 28-Std.-Ratten haben einen deutlichen Proteinverlust. Ureterlegierte und Nephrektomierte zeigen bei den 12-Std.-Tieren einen viel höheren Proteingehalt im Vergleich zu den Scheinoperierten, der aber nach 28 bzw. 44 Stunden stark abfällt.

b) Der Muskelproteingehalt zeigt bei den scheinoperierten Tieren unter Verfütterung der mittleren Pyruvatdosis C 2 einen leichten Anstieg. Der Proteingehalt der Ureterlegierten bleibt konstant, während bei den Nephrektomierten ein starker Abfall nach 44 Stunden zu verzeichnen ist.

Tabelle 7: Verhalten des Muskelproteins (mg/ml)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	18,7 ± 1,5	12,3 ± 1,3	17,4 ± 0,5
UL	C 1	36,8 ± 2,9	10,8 ± 1,0	12,5 ± 2,1
NE	C 1	44,2 ± 2,0	31,8 ± 4,6	16,8 ± 1,2
SOP	C 2	16,2 ± 4,1	21,7 ± 1,6	20,2 ± 2,9
UL	C 2	22,4 ± 2,3	22,7 ± 2,8	22,8 ± 3,0
NE	C 2	19,1 ± 1,5	21,7 ± 1,6	12,2 ± 3,4

c) Der Muskelproteingehalt der verfütterten höchsten Pyruvatdosis C 3 liegt bei den Scheinoperierten nach 12 Stunden bei 22,4 ± 2,9 mg/ml, nach 28 Stunden bei 24,3 ± 0,67 mg/ml. Die Ureterlegierten und Nephrektomierten haben einen Vergleichswert von 18,0 ± 1,6 mg/ml bzw. 23,4 ± 2,7 mg/ml nach 12 Stunden, der nach 28 Stunden ebenfalls bei 23,5 ± 4,0 mg/ml liegt.

III. Nierenprotein

a) Bei den Scheinoperierten der Gruppe C 1 steigt der Nierenproteingehalt von 32,5 ± 4,7 mg/ml (12 Std.) auf 38,5 ± 8,7 mg/ml (28 Std.), um nach 44 Stunden bei 40,4 ± 2,9 mg/ml zu liegen. Die Ureterlegierten zeigen ebenfalls einen Anstieg von 28,8 ± 3,8 mg/ml auf 36,6 ± 7,3 mg/ml und 32,4 ± 4,3 mg/ml.

b) Der Nierenproteingehalt der Versuchsgruppe C 2 zeigt bei den Scheinoperierten wie auch bei den Ureterlegierten einen Anstieg im 28-Std.-Wert, um dann im letzten Zeitabschnitt auf niedrigere Werte zu fallen.

Tabelle 8: Verhalten des Nierenproteins (mg/ml)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 2	31,6 ± 5,8	36,0 ± 5,0	23,4 ± 5,5
UL	C 2	25,7 ± 2,7	26,2 ± 4,2	19,7 ± 1,6

c) Der Nierenproteingehalt der Versuchstiere C 3 steigt bei den Scheinoperierten von 35,4 ± 6,5 mg/ml (12 Std.) auf 36,7 ± 1,1 mg/ml und fällt bei den Ureterlegierten von 26,4 ± 4,2 mg/ml (12 Std.) auf 23,2 ± 4,5 mg/ml.

3.10 Verhalten des Gesamtkohlenhydratgehaltes in Leber, Muskel und Nieren

I. Leber

a) Beim Verfüttern der niedrigsten Pyruvatdosis C 1 zeigt der Gesamtkohlenhydratgehalt der Leber der nephrektomierten Tiere fallende Tendenz. Bei den Ureterlegierten und Scheinoperierten ist nach 44 Stunden der Ausgangswert wieder erreicht.

b) Unter Verfütterung der mittleren Pyruvatdosis C 2 liegt der Gesamtkohlenhydratgehalt der Leber höher als bei Gabe der niedrigsten Pyruvatdosis. Bei den Scheinoperierten kommt es mit der Versuchsdauer zu einem Abfall des Gesamtkohlenhydratgehaltes. Die Ureterlegierten und Binephrektomierten zeigen einen Anstieg des 28-Std.-Wertes mit Abfall bis zur 44.Stunde.

Tabelle 9: Gesamtkohlenhydratgehalt der Leber (mg/ml)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	1,23 ± 0,26	0,94 ± 0,24	1,13 ± 0,21
UL	C 1	0,89 ± 0,19	0,85 ± 0,13	0,45 ± 0,09
NE	C 1	1,13 ± 0,12	0,81 ± 0,17	1,18 ± 0,18
SOP	C 2	1,96 ± 0,27	1,53 ± 0,32	1,28 ± 0,29
UL	C 2	1,16 ± 0,21	1,76 ± 0,25	1,11 ± 0,20
NE	C 2	0,80 ± 0,11	1,50 ± 0,16	1,40 ± 0,22

c) Die höchste Pyruvatdosis C 3 läßt den Gesamtkohlenhydratgehalt der Leber bei den Scheinoperierten von 2,03 ± 0,26 mg/ml (12 Std.) auf 0,35 ± 0,06 mg/ml (28 Std.) fallen, dagegen steigen die Werte bei den Ureterlegierten von 0,89 ± 0,03 mg/ml (12 Std.) auf 1,16 ± 0,12 mg/ml (28 Std.).

Ähnlich verhalten sich die Nephrektomierten: 0,76 ± 0,12 mg/ml nach 12 Std. und 1,10 ± 0,15 mg/ml nach 28 Stunden.

II. Muskel

a) Der Gesamtkohlenhydratgehalt im Muskel ist bei den Scheinoperierten und Ureterlegierten der Versuchsgruppe C 1 von der 12. auf die 28.Stunde fallend, zum späteren Zeitpunkt steigend. Dagegen bleibt der Gesamtkohlenhydratgehalt bei den Binephrektomierten konstant.

b) Der Gesamtkohlenhydratgehalt im Muskel zeigt bei allen Versuchsgruppen C 2 hohe Ausgangswerte (12 Std.), die abrupt bis zur 28.Stunde abfallen, um dann langsam auszulaufen (44.Std.).

Tabelle 10: Gesamtkohlenhydratgehalt im Muskel (mg/ml)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	0,94 ± 0,15	0,57 ± 0,08	1,10 ± 0,26
UL	C 1	1,20 ± 0,24	0,48 ± 0,05	0,75 ± 0,12
NE	C 1	0,90 ± 0,11	0,98 ± 0,12	0,87 ± 0,06
SOP	C 2	2,01 ± 0,39	1,43 ± 0,34	1,24 ± 0,25
UL	C 2	2,14 ± 0,31	1,21 ± 0,24	1,10 ± 0,23
NE	C 2	2,07 ± 0,32	0,71 ± 0,12	0,63 ± 0,09

c) Der Gesamtkohlenhydratgehalt im Muskel der Versuchsgruppe C 3 verhält sich bei den scheinoperierten Tieren folgendermaßen: 1,31 ± 0,31 mg/ml nach 12 Stunden, 0,84 ± 0,11 mg/ml nach 28 Stunden. Die Werte der Ureterlegierten und Nephrektomierten liegen niedriger: 0,89 ± 0,09 mg/ml (12 Std.) und 0,49 ± 0,02 mg/ml (28 Std.).

III. Nieren

a) Der Gesamtkohlenhydratgehalt der Nieren verhält sich bei den Scheinoperierten der Versuchsgruppe C 1 mit 0,20 ± 0,02 mg/ml (12 Std.), 0,54 ± 0,06 mg/ml (28 Std.) und 0,20 ± 0,03 mg/ml (44 Std.) ähnlich wie bei den Ureterlegierten mit 0,07 ± 0,0 mg/ml (12 Std.), 0,53 ± 0,07 mg/ml

(28 Std.) und 0,13 ± 0,02 mg/ml (44 Std.).

b) Der Gesamtkohlenhydratgehalt der Nieren liegt bei den Ureterlegierten der Gruppe C 2 deutlich über den Scheinoperierten.

Tabelle 11: Gesamtkohlenhydratgehalt der Nieren (mg/ml)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 2	0,09 ± 0,02	0,39 ± 0,05	0,30 ± 0,05
UL	C 2	0,55 ± 0,11	0,43 ± 0,08	0,68 ± 0,09

c) Der Gesamtkohlenhydratgehalt der Nieren liegt nach Verfütterung der höchsten Pyruvatdosis C 3 bei den Scheinoperierten bei 0,47 ± 0,07 mg/ml nach 12 Std. und sinkt auf 0,22 ± 0,03 mg/ml (28 Std.). Die Ureterlegierten haben einen Gesamtkohlenhydratgehalt nach 12 Stunden von 0,33 ± 0,04 mg/ml, der nach 28 Stunden auf 0,45 ± 0,09 mg/ml angestiegen ist.

3.11 Verhalten des Glykogens in Leber, Muskel und Niere

I. Leber

a) Unter der niedrigsten Pyruvatdosis C 1 zeigen alle drei Versuchsgruppen ähnliches Leberglykogenprofil. Der 12-Std.-Wert liegt relativ hoch und halbiert sich zu der 28.Stunde. Nur bei dem 44-Std.-Wert gibt es Unterschiede: der Leberglykogengehalt steigt bei den Scheinoperierten leicht an, bei den Ureterlegierten fällt er stark ab und bei den Nephrektomierten steigt er wiederum stark an und erreicht den Ausgangswert.

b) Bei Verfütterung der mittleren Pyruvatdosis C 2 fällt auf, daß sowohl bei der scheinoperierten, ureterlegierten wie auch bei der nephrektomierten Gruppe stark erhöhte 44-Std.-Leberglykogen-Werte zu finden sind, etwa doppelt so hoch wie die 12-Std.-Werte.

c) Bei der höchsten Pyruvatdosis C 3 zeigen die scheinoperierten Tiere fallende Leberglykogenkonzentrationen, die

Ureterlegierten und Nephrektomierten dagegen einen Anstieg des Leberglykogengehaltes.

Tabelle 12: Leberglykogen (ng/ml)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	25,4 ± 4,3	11,5 ± 2,4	13,3 ± 3,5
UL	C 1	22,1 ± 3,6	10,2 ± 2,3	2,4 ± 0,2
NE	C 1	17,3 ± 3,7	10,6 ± 1,4	17,5 ± 3,3
SOP	C 2	29,9 ± 5,9	16,0 ± 2,9	83,3 ± 9,0
UL	C 2	18,7 ± 1,4	25,6 ± 2,2	34,9 ± 3,5
NE	C 2	12,4 ± 1,5	14,7 ± 2,1	28,7 ± 5,3
SOP	C 3	39,8 ± 6,5	24,3 ± 4,5	
UL	C 3	15,6 ± 3,0	29,4 ± 3,5	
NE	C 3	20,0 ± 3,9	22,5 ± 3,1	

II. Muskel

a) Der Muskelglykogengehalt steigt bei der Gruppe C 1 der Scheinoperierten an, während er bei den Ureterlegierten und Nephrektomierten fällt.

b) Die Muskelglykogenkonzentration der Versuchsgruppe C 2 nimmt mit der Versuchsdauer bei der scheinoperierten, ureterlegierten und nephrektomierten Gruppe ab.

Tabelle 13: Muskelglykogen (ng/ml)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	8,8 ± 1,2	18,7 ± 3,4	24,0 ± 4,5
UL	C 1	40,2 ± 7,2	17,1 ± 4,2	11,7 ± 1,0
NE	C 1	24,5 ± 3,1	6,9 ± 1,2	15,2 ± 3,9
SOP	C 2	36,3 ± 6,2	16,7 ± 3,9	19,5 ± 4,1
UL	C 2	23,0 ± 4,2	11,6 ± 1,9	15,6 ± 2,4
NE	C 2	23,6 ± 4,5	16,0 ± 3,2	10,5 ± 2,2

c) Das Muskelglykogen liegt bei der Gruppe C 3 bei den Scheinoperierten in der 12.Std. bei 20,0 ± 3,2 ng/ml und

steigt auf 54,0 ± 7,2 ng/ml in der 28.Stunde. Die Ureterligierten zeigen einen 12-Std.-Wert von 19,1 ± 3,0 ng/ml, der zur 28.Stunde auf 13,5 ± 3,5 ng/ml abfällt. Die Nephrektomierten verhalten sich ähnlich.

III. Niere

a) Das Nierenglykogen der Versuchstiere C 1 verhält sich bei den Scheinoperierten ähnlich wie bei den Ureterligierten.

b) Der Nierenglykogengehalt der C 2-Gruppe steigt sowohl bei den Scheinoperierten wie auch bei den Ureterligierten bis zur 44.Stunde an.

c) Das Nierenglykogen der Versuchsgruppe C 3 steigt sowohl bei den Scheinoperierten, wie auch bei den Ureterligierten zur 28.Stunde stark an (etwa 2-fach).

Tabelle 14: Nierenglykogen (ng/ml)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	3,55 ± 0,1	19,10 ± 3,4	8,65 ± 1,2
UL	C 1	5,25 ± 1,1	16,60 ± 1,0	7,06 ± 0,9
SOP	C 2	7,17 ± 0,4	13,20 ± 1,9	14,10 ± 2,0
UL	C 2	8,40 ± 1,7	7,25 ± 1,0	16,70 ± 3,4
SOP	C 3	22,60 ± 3,9	52,60 ± 8,1	
UL	C 3	17,80 ± 3,1	34,10 ± 9,0	

3.12 Verhalten des Phosphats in Leber, Muskel und Niere

I. Leber

a) Unter der niedrigsten Pyruvatdosis C 1 zeigen alle Tiere einen wachsenden Leberphosphatspiegel, einzig der 44-Std.-Wert der Nephrektomierten liegt mit 43,8 ± 7,5 nMol/mg Protein bedeutend tiefer im Vergleich mit den anderen Konzentrationen.

b) Die mittlere Pyruvatdosis C 2 führt zu einem Abfall des Leberphosphats in der 28.Stunde bei allen drei Versuchsgruppen. Zur 44.Stunde kommt es bei den Scheinoperierten und Nephrektomierten zu einem Phosphatanstieg.

Tabelle 15: Leberphosphat (nMol/mg Protein)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	43,8 ± 8,5	68,1 ± 10,5	80,6 ± 12,1
UL	C 1	28,3 ± 4,1	78,2 ± 11,1	80,7 ± 11,0
NE	C 1	40,2 ± 7,2	76,5 ± 12,1	43,8 ± 7,5
SOP	C 2	102,0 ±12,6	53,3 ± 7,8	93,5 ± 10,5
UL	C 2	89,1 ± 8,9	60,0 ± 6,5	43,0 ± 6,5
NE	C 2	71,8 ±10,8	30,9 ± 3,2	102,0 ± 15,1

II. Muskel

a) Der Muskelphosphatspiegel der Gruppe C 1 fällt bei den scheinoperierten Tieren von 211 auf 160 nMol/mg, bei den ureterlegierten und nephrektomierten steigt er dagegen bis zur 44.Stunde stark an.

b) Beim Muskelphosphatspiegel der C 2-Versuchsgruppe fällt auf, daß er bei den Scheinoperierten mit der Länge des Versuches abfällt, bei den Ureterlegierten und Nephrektomierten aber nur wenig zur 28.Stunde abfällt, um mit dem 44-Std.-Wert anzusteigen und somit über dem 12-Std.-Wert zu liegen.

Tabelle 16: Muskelphosphat (nMol/mg Protein)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	211,6 ±22,5	167,1 ±20,5	160,0 ±12,6
UL	C 1	94,6 ±14,2	191,0 ±31,2	252,3 ±35,1
NE	C 1	59,1 ± 8,5	54,6 ± 6,8	179,1 ±17,2
SOP	C 2	116,0 ±18,0	90,4 ±14,3	64,5 ± 7,7
UL	C 2	99,6 ±13,4	87,3 ± 9,6	102,4 ±12,5
NE	C 2	95,2 ±13,6	82,5 ±11,9	108,3 ±20,2

III. Niere

a) Das Nierenphosphatgehalt der Versuchsgruppe C 1 verhält sich bei den Scheinoperierten und Ureterlegierten etwa gleich.

b) Der Nierenphosphatspiegel der Gruppe C 2 fällt bei den Scheinoperierten und steigt dann wieder zur 44.Stunde an. Die Ureterlegierten steigen anfangs an und fallen später ab.

Tabelle 17: Nierenphosphat (nMol/mg Protein)

Art der Operation	Pyruvat-dosis	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	89,9 ± 16,2	64,2 ± 8,6	98,9 ± 11,5
UL	C 1	88,8 ± 6,3	106,3 ± 13,8	82,3 ± 9,8
SOP	C 2	89,9 ± 8,8	64,2 ± 4,5	98,9 ± 12,2
UL	C 2	88,8 ± 10,5	106,3 ± 9,5	82,3 ± 8,4

3.13 Verhalten der Glykogensynthetase I (Glukose-6-P-independent) und D (Glukose-6-P-dependent)

I. Leber

a) Unter der niedrigsten Pyruvatdosis der Gruppe C 1 sinkt die Glykogensynthetase-I-Aktivität mit der Zeit ab, ähnlich nimmt aber auch die D-Form in der Leber ab. Bei den Ureterlegierten bleibt die Aktivität der I-Form konstant, nach 44 Stunden kommt es zu einem Abfall der Aktivität der D-Form des Enzyms. Die Nephrektomierten haben eine fallende Leberglykogensynthetase I und ebenso eine fallende Synthetase D, deren Aktivität aber zur 44.Stunde wieder ansteigt.

b) Unter der mittleren Pyruvatdosis C 2 kommt es zu der 28. Stunde zum größten Leberglykogensynthetase-I-Aktivitätsanstieg, sowohl bei den Scheinoperierten wie auch bei den Ureterlegierten. Die Glykogensynthetase D hat bei den Scheinoperierten ebenfalls in der 28.Stunde ihr Maximum, zeigt aber bei den Ureterlegierten in allen drei Zeitabschnitten ähnlich hohe Konzentrationen. Die Nephrektomierten konnten nicht gemessen werden.

Tabelle 18: Leberglykogensynthetase I und (D) (nMol/min/mg)

Art der Operation	Pyruvatdosis	Form	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	I	0,55 ± 0,09	0,51 ± 0,08	0,38 ± 0,07
		D	(1,41 ± 0,22)	(0,78 ± 0,11)	(0,82 ± 0,12)
UL	C 1	I	0,35 ± 0,07	0,45 ± 0,09	0,40 ± 0,08
		D	(0,94 ± 0,18)	(0,98 ± 0,16)	(0,64 ± 0,12)
NE	C 1	I	0,58 ± 0,11	0,47 ± 0,09	0,44 ± 0,08
		D	(1,47 ± 0,24)	(0,92 ± 0,16)	(1,11 ± 0,26)
SOP	C 2	I	0,37 ± 0,07	0,65 ± 0,07	0,21 ± 0,03
		D	(1,04 ± 0,24)	(1,26 ± 0,33)	(0,79 ± 0,22)
UL	C 2	I	0,43 ± 0,08	0,46 ± 0,09	0,35 ± 0,07
		D	(0,82 ± 0,12)	(0,80 ± 0,14)	(0,85 ± 0,13)

II. Muskel

a) Im Skelettmuskel zeigt sich bei allen C 1-Gruppen eine Zunahme der Glykogensynthetase I und Glykogensynthetase D von der 12. zur 44.Stunde. Die spezifischen Aktivitäten der Scheinoperierten übertreffen dabei die Vergleichswerte der akut urämischen Tiere.

b) Die Muskelglykogensynthetase I der Gruppe C 2 zeigt bei den Scheinoperierten wie auch bei den Ureterlegierten kontinuierliche Aktivitätsverluste, ebenso verhält sich die D-Form. Dabei ist die Inaktivierung des Enzyms nach Ureterligatur erheblich stärker als nach Scheinoperation.

Tabelle 19: Muskelglykogensynthetase I und (D) (nMol/min/mg)

Art der Operation	Pyruvatdosis	Form	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	I	4,13 ± 0,52	6,47 ± 1,01	6,58 ± 1,29
		D	(4,14 ± 0,32)	(8,15 ± 1,50)	(7,17 ± 1,53)
UL	C 1	I	3,36 ± 0,56	6,76 ± 1,44	3,76 ± 0,45
		D	(3,78 ± 0,62)	(7,52 ± 1,84)	(5,38 ± 0,99)
NE	C 1	I	2,15 ± 0,48	2,67 ± 0,48	3,27 ± 0,41
		D	(2,50 ± 0,44)	(3,08 ± 0,61)	(4,62 ± 0,71)

noch Tabelle 19: Muskelglykogensynthetase I und (D) (nMol/min/mg)

Art der Operation	Pyruvatdosis	Form	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 2	I	6,95 ± 1,05	6,11 ± 1,06	5,23 ± 1,04
		D	(6,99 ± 1,25)	(6,40 ± 0,96)	(5,98 ± 1,18)
UL	C 2	I	4,45 ± 0,84	3,01 ± 0,52	1,99 ± 0,04
		D	(5,00 ± 1,02)	(4,10 ± 0,61)	(2,47 ± 0,03)

III. Niere

a) Die spezifische Aktivität der Glykogensynthetase der Versuchsgruppe C 1 ist in der Niere bedeutend niedriger als in den anderen Organen. Die Aktivität der I-Form steigt bei den Scheinoperierten am stärksten in der 28-Std.-Gruppe, bei den Ureterlegierten am stärksten bis zur 44.Stunde an.

b) Die Aktivität der Glykogensynthetase I der Gruppe C 2 zeigt in der Niere bei den Scheinoperierten und Ureterlegierten einen deutlichen Konzentrationsverlust in der 28. Stunde. Andererseits ist die Glykogensynthetase-D-Aktivität zur 44.Stunde in beiden Gruppen am höchsten.

Tabelle 20: Nierenglykogensynthetase I und (D) (nMol/min/mg)

Art der Operation	Pyruvatdosis	Form	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	I	0,06 ± 0,01	0,21 ± 0,04	0,17 ± 0,02
		D	(0,17 ± 0,01)	(0,43 ± 0,08)	(0,31 ± 0,05)
UL	C 1	I	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,12 ± 0,02
		D	(0,18 ± 0,03)	(0,23 ± 0,01)	(0,20 ± 0,04)
SOP	C 2	I	0,18 ± 0,03	0,12 ± 0,02	0,20 ± 0,03
		D	(0,23 ± 0,04)	(0,23 ± 0,01)	(0,38 ± 0,08)
UL	C 2	I	0,35 ± 0,07	0,16 ± 0,03	0,26 ± 0,03
		D	(0,25 ± 0,05)	(0,24 ± 0,04)	(0,39 ± 0,07)

3.14 Verhalten der Phosphorylase a (aktiv)

I. Leber

a) Unter der niedrigsten Pyruvatdosis C 1 zeigt die Leberphosphorylase a bei den Scheinoperierten und Binephrektomierten einen starken Aktivitätsanstieg zur 44. Stunde, während die Aktivitäten des Enzyms nach Ureterligatur nach 44 Stunden auf etwa ein Drittel des Ausgangswertes abnehmen.

b) Unter der mittleren Pyruvatdosis C 2 kann man bei allen Tieren eine deutliche Tendenz der Phosphorylase-a-Aktivitätszunahme in der Leber erkennen, wobei die Ureterligierten und Nephrektomierten einen erhöhten Ausgangswert besitzen.

Tabelle 21: Leberphosphorylase a (nMol/min/mg)

Art der Operation	Pyruvatdosis	Form	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	a	253,2 ± 50,0	214,6 ± 59,6	744,4 ± 102,8
UL	C 1	a	410,1 ± 29,5	662,7 ± 65,9	624,5 ± 330,4
NE	C 1	a	304,5 ± 69,5	167,2 ± 37,6	713,0 ± 119,3
SOP	C 2	a	38,2 ± 7,1	136,9 ± 27,5	304,3 ± 38,9
UL	C 2	a	168,7 ± 37,6	198,9 ± 43,3	306,1 ± 41,2
NE	C 2	a	271,6 ± 28,4	297,6 ± 41,8	345,9 ± 48,1

II. Muskel

a) Bei den Scheinoperierten der C 1-Gruppe fällt die spezifische Aktivität der Muskelphosphorylase a zur 44. Stunde auf die Hälfte. Andererseits kommt es bei den akut urämischen Ratten zu einer mehr als 4-fachen Aktivierung der Muskelphosphorylase nach 44 Stunden.

b) Im Skelettmuskel kommt es bei allen Tieren der Gruppe C 2 zu einer starken Aktivitätszunahme nach dem zweiten Zeitabschnitt, um dann zur 44. Stunde leicht abzufallen.

Tabelle 22: Muskelphosphorylase a (nMol/min/mg)

Art der Operation	Pyruvatdosis	Form	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	a	2306,0±428,1	2591,0±302,1	1352,8±235,1
UL	C 1	a	473,1± 70,1	2844,7±576,1	1988,2±440,5
NE	C 1	a	401,3± 31,5	727,1±122,5	1892,8±392,8
SOP	C 2	a	262,9± 36,2	370,3± 44,2	101,3± 21,4
UL	C 2	a	268,1± 26,2	726,1±107,1	423,5± 61,5
NE	C 2	a	381,2± 36,4	723,6±112,6	256,4± 28,2

III. Niere

a) Die Aktivität der Nierenphosphorylase a der C 1-Gruppe fällt bei den Scheinoperierten wie auch bei den Ureterligierten stark ab.

b) Die Phosphorylase-a-Aktivität der Versuchsgruppe C 2 steigt bei den Scheinoperierten etwa 10-fach an, während sich nach Ureterligatur die Enzymaktivität verdoppelt.

Tabelle 23: Nierenphosphorylase a (nMol/min/mg)

Art der Operation	Pyruvatdosis	Form	Dauer des Versuchs in Stunden 12	28	44
SOP	C 1	a	726,0 ± 92,6	238,4 ± 36,6	258,4 ± 26,7
UL	C 1	a	890,6 ±107,8	347,8 ± 44,6	192,3 ± 41,5
SOP	C 2	a	45,8 ± 4,8	359,7 ± 71,8	449,5 ± 82,6
UL	C 2	a	323,2 ± 51,3	324,6 ± 53,8	655,3 ±120,1

4. DISKUSSION

Wird Pyruvat in hoher Dosierung oral verabreicht, kommt es einerseits zu einem Anstieg des Muskelglykogens, andererseits zu einem Abfall der Blutglukose. Es wird hochdosiert Pyruvat verabreicht, um die Auswirkungen auf den Protein- und Glykogenmetabolismus darzustellen. Unter dem Zustand einer akuten Urämie läßt sich der Proteinkatabolismus im Muskel eventuell durch geeignete Aufbaustoffe für die Glukoneogenese der Leber verhindern.

Bei Normaltieren konnte nach einer 18 bis 24 stündigen Fastenperiode eine Stimulierung der Glukosesynthese aus Pyruvat, Lactat, Alanin, Glycerol, Di-OH-Acetonphosphat und Fructose festgestellt werden. Dieses gilt jedoch nicht für die Zwischenprodukte des Zitratzyklus (26).

Bei scheinoperierten Tieren zeigt sich, daß hohe Pyruvatdosen ohne erkennbare Intoxikationserscheinungen toleriert werden. Bei ureterligierten und nephrektomierten Tieren kommt es zu toxischen Effekten. Man muß jedoch davon ausgehen, daß die drei Faktoren Urämie, metabolische Acidose und die hohen Pyruvatdosen, zusammen diese Toxizität ergeben. Die Blutglukosekonzentration und die Toxizität verstärken sich bei den drei vorhandenen Versuchstiergruppen im gleichen Maß, wie die sich steigernde Pyruvatdosis. Pyruvat wird als Natriumsalz verabreicht, so daß bei der höchst applizierten Dosis das zusätzliche Auftreten einer Natriumintoxikation berücksichtigt werden muß. Diese hochkonzentrierte Pyruvatdosis toleriert aus diesem Grunde kein Versuchstier über 44 Stunden. Bei der mittleren Pyruvatdosis kommt es bei den scheinoperierten Tieren zu keinen nennenswerten Intoxikationserscheinungen. Die Serumnatriumkonzentration befindet sich bis zum Zeitpunkt der 44-Std.-Versuchsdauer immer im Bereich der Norm (ca. 143 mval/l). Die urämischen Tiere zeigen jedoch mit Fortschreiten der Versuchsdauer stark ansteigende Serumnatriumkonzentrationen.

Aus dem Anstieg der Plasmapyruvatkonzentration im Blut resultiert eine verringerte Pyruvattoleranz. Dieses ergaben die von Campanacci durchgeführten Untersuchungen (7). Es erscheint unwahrscheinlich, daß unter urämischen Bedingungen ein Minimum an Pyruvat ausgeschieden wird. Bei gesunden Nieren wurden 0,8 % der verabreichten Pyruvatdosis wieder ausgeschieden, bei den Urämischen dagegen 0,1 %. Die wahrscheinlichste Erklärung dafür ist, daß in der Urämie ein Defekt im Metabolismus von Pyruvat besteht. Eine nicht ausreichende Oxydierung des Pyruvats im Zitratzyklus kann dafür ursächlich sein, entweder durch eine verminderte Bildung von Acetyl-Coa oder eine reduzierte Aktivität des Zyklus (56). Auch die niedrigen Plasmaoxoglutaratspiegel weisen ebenfalls auf die verminderte Utilisation des Zitratzyklus hin.

Im Normalzustand wird Pyruvat hauptsächlich zu Acetaldehyd umgewandelt. Aktiver Acetaldehyd wird größtenteils zu Acetyl-CoA oder aber zu Acetoin umgewandelt (46). Acetoin wird weiter zu 2-3 Butylenglykol reduziert. Der Anstieg des Pyruvats im Zustand der Urämie ist möglicherweise auf verminderte Bildung von Acetyl-CoA zurückzuleiten. Die Bildung von Acetoin und 2-3 Butylenglykol beruht auf einem kompensatorischen Mechanismus. Glykole ziehen verschiedenartige Krankheitszustände nach sich, z. B. Entzündungen, Hämolyse, Somnolenz, veränderte Gefäß- und Zellmembranpermeabilität (68). Dieses wurde durch Thölen erhärtet, der aufzeigte, daß urämische Patienten mit mittelschwerer Bewußtseinsstörung erhöhte Acetoin und 2-3 Butylenglykolspiegel haben. Im komatösen, präfinalen Zustand vermindert sich deren Konzentration, Pyruvat jedoch steigt an. Die Acetoinsynthese nimmt bei Erhöhung der harnpflichtigen Substanzen und CoA-Mangel ebenso zu, wie bei metabolischer Acidose und Hypoxie.

Nach Montgomery kann aus Pyruvat durch Aldol-Kondensation ein Dimeres Parapyruvat gebildet werden. Parapyruvat hemmt die oxidative Decarboxylierung von alpha-Ketoglutarat zu

Succinat, nachgewiesen in den Mitochondrien von Rattenherzen (52).

In den Seren von Urämikern sind nach Wilkinson Inhibitoren vorhanden, die zu einer Hemmung der Lactatdehydrogenase führen (73). Als starker Inhibitor der LDH, besonders des elektrophoretisch auftrennbaren Ixoenzyms LDH_5 wurde unter anderem der Harnstoff entdeckt. Es konnte aber von Waterlow nachgewiesen werden, daß nach der Verwendung von Urease dieser Wirkstoff seine Wirkung verlor (71).

Die Wirkung des Pyruvats steht nicht nur mit der Höhe der verschiedenen Dosen in Zusammenhang, sondern auch mit der jeweiligen Art der Applikation.

Perfundiert man eine Rattenleber mit der Pyruvatlösung, kommt es zu einem Anstieg von Glykogen und Glukose in derselben. In den isolierten Hepatozyten steigert sich die Glukoneogenese. Bei oraler Zufuhr des Pyruvats in hoher Dosierung erreicht man einen Abfall der Blutglukose bei gleichzeitigem Anstieg des Glykogens im Muskel. Hohe Dosen von Pyruvat erweisen sich im Vergleich zu adäquaten Dosen von Serin als ausgesprochen toxisch (36).

5. ZUSAMMENFASSUNG

An scheinoperierten, ureterligierten und binephrektomierten Ratten wurde der Einfluß einer oralen Applikation unterschiedlicher Pyruvatdosen auf den Protein- und Glykogenstoffwechsel in Leber, Niere und Skelettmuskulatur untersucht. Folgende Ergebnisse wurden erarbeitet:

1. Nach oraler Gabe von 0,08 und 0,4 g Pyruvat/Ratte/24 Std. überlebten sämtliche Tiere der drei untersuchten Gruppen (scheinoperierte, ureterligiert und binephrektomierte Tiere) auch 44 Std. nach dem operativen Eingriff. Nach Applikation von 2 g Pyruvat/Ratte/24 Std. lag die Mortalität bei den akut urämischen Ratten 44 Std. nach Versuchsbeginn bei 100 %.

2. Unter Gabe von 0,08 g Pyruvat/Ratte/24 Std. liegen die Blutglukosespiegel in allen Gruppen im Normbereich, unter Gabe von 0,4 g Pyruvat/Ratte/24 Std. lassen sich dagegen 44 Std. nach Ureterligatur oder Binephrektomie mit 162 bzw. 201 mg/dl deutlich hyperglykämische Blutglukosewerte nachweisen, während die Blutglukosespiegel nach Scheinoperation im Normbereich liegen (72,0 $\pm$ 10,2 mg/dl). Unter der höchsten Pyruvatdosis finden sich in allen drei Gruppen 28 Std. nach dem operativen Eingriff erhöhte Blutglukosewerte mit 146,0 (Scheinoperation), 145,3 (Ureterligatur) und 148,0 mg/dl (Binephrektomie).

In Höchstdosierung führt die orale Gabe von Pyruvat zum Abfall des Harnstoff-N bei den akut urämischen Ratten, zum Anstieg des Plasma-Natriums und Plasmakaliums, ferner zum Anstieg des Blutpyruvat- und Blutlaktatspiegels.

3. Die orale Applikation der drei verschiedenen Pyruvatdosen bleibt ohne sicheren Einfluß auf Leber-, Muskel- und Nierenproteingehalt bei scheinoperierten, binephrektomierten und ureterligierten Ratten.

4. Der Gesamtkohlenhydratgehalt in Leber und Nieren bleibt bei scheinoperierten, binephrektomierten und ureterligierten Ratten von der applizierten Pyruvatdosis unbeeinflußt, lediglich im Skelettmuskel führt

die Gabe von 0,4 g Pyruvat/Ratte/24 Std. zu einer Verdoppelung des Gesamtkohlenhydratgehaltes 12 Std. nach dem operativen Eingriff.

5. Der Glykogengehalt ist bei allen Pyruvatdosierungen in der Leber und Skelettmuskulatur scheinoperierter, binephrektomierter und ureterligierter Ratten nicht sicher verändert. Unter höchstdosierter Pyruvatgabe kommt es in der Niere scheinoperierter und ureterligierter Ratten zu einem deutlichen Glykogenanstieg.

6. In der Leber scheinoperierter und ureterligierter Ratten führt die Applikation von 0,4 g Pyruvat/Ratte/24 Std. zu einer Hemmung der Phosphorylase-a-Aktivität, verglichen mit den spezifischen Aktivitäten des Enzyms nach Gabe von 0,08 g Pyruvat/Ratte/24 Std. Auch in der Skelettmuskulatur scheinoperierter Ratten liegt die spezifische Aktivität der Phosphorylase-a unter Gabe von 0,4 g Pyruvat 10-fach niedriger als unter Gabe von 0,08 g/Ratte/24 Std. Dagegen führt die niedrigste Pyruvatdosis bereits 12 Std. nach Ureterligatur oder Binephrektomie zu einer deutlichen Hemmung der Phosphorylase-a-Aktivität, verglichen mit scheinoperierten Tieren, dieser Effekt ist auch 28 Std. nach Binephrektomie zu beobachten. In der Niere kommt es bei niedriger Pyruvatdosierung mit der Versuchsdauer zum Abfall der Phosphorylaseaktivität, bei mittlerer Pyruvatdosierung dagegen zu einem kontinuierlichen Anstieg der Phosphorylase-a-Aktivität.

7. Die spezifische Aktivität der Glykogen-Synthetase ist in Leber und Niere unabhängig von der Pyruvatdosierung, in der Skelettmuskulatur akut urämischer Ratten unter Gabe von 0,08 und 0,4 g Pyruvat/Ratte/24 Std. deutlich niedriger als bei den scheinoperierten Tieren.

LITERATURVERZEICHNIS

1) Amend WJC Jr, Steinberg SM, Lowrie EG, Lazarus JM, Soeldner JS, Hampers CL, Merrill JP
The influence of serum calcium and parathyreoid hormone upon glucose metabolism in uremia.
J.Lab.Clin.Med. 86: 435 (1975)

2) Balestri P, Biagini M, Rindi P, Giovanetti S,
Uremic toxins.
Arch.Intern.Med. 126: 843 (1970)

3) Beisbarth H, Fekl W
Parenterale Ernährung. Fettemulsion und Fettstoffwechsel.
Z.Ernährungsw.Suppl. 10: 73 (1971)

4) Bergström J, Hultmann E
Glycogen content of sceletal muscle in patients with renal failure.
Acta Med.Scand. 186: 177 (1969)

5) Bilbrey GL, Faloona GR, White MG, Knochel JP
Hyperglucagonemia of renal failure.
J.Clin.Invest. 53: 841 (1969)

6) Bilbrey GL, Faloona GR, White MG, Atkins C, Hull AR, Knochel JP
Hyperglucagonemia in uremia: Reversal by renal transplantation.
Ann.Intern.Med. 82: 525 (1975)

7) Campanacci L, Guarnieri GF, Faccini L, Bellini G
Pyruvate tolerance test in chronic uremic patients.
Nephron 10: 232 (1973)

8) Coats DA
The place of ethanol in parenteral nutrition.
(Hrsgb.Wilkinson AW) Livingstone, Edinburgh (1972)

9) Cohen BD
Interaction of protein, carbohydrate and fat in uremia.
Proc. 6th Int.Congr.Nephrol. Florence 1975.
Karger, Basel 204 (1976)

10) Cook DE
Gluconeogenesis in the Guinea Pig.
Eur.J.Biochem. 76: 567 (1977)

11) De Fronzo RA, Andres R, Edgar P, Walker WG
Carbohydrate metabolism in uremia: a review.
Medicine 52: 469 (1973)

12) Emerson PM, Withcombie WA, Wilkinson AW
Inhibition of lactatdehydrogenase by sera of uremic patients.
Lancet 2: 571 (1965)

13) Emmanouel DS, Jaspan JB, Kuku SF, Rubenstein AH, Katz AJ
Pathogenesis and characterization of hyperglucagonemia in the uremic rat.
J.Clin.Invest. 58: 1266 (1976)

14) Exton JH, Park CR
Control of gluconeogenesis in liver.
J.Biol.Chem. 242: 2622 (1967)

15) Exton JH
Progress in endocrinology and metabolism: Gluconeogenesis.
Metabolism 21: 945 (1972)

16) Felig P
Amino acid metabolism in man
Ann.Rev.Biochem. 44: 933 (1975)

17) Felig P, Marliss E, Pozefsky T, Cahill GF jr
Alanine: key role in gluconeogenesis.
Science 107: 1003 (1970)

18) Förster H
Sind bei Zuckeraustauschstoffen wirklich Nebenwirkungen zu erwarten ?
Dtsch.med.Wschr. 98: 839 (1973)

19) Förster H
Grundlagen für die Verwendung der Zuckeraustauschstoffe Fructose, Sorbit und Xylit.
Med.Ernährung 13: 7 (1972)

20) Förster H, Lacko L
Physiologische Chemie.
Enke (1975)

21) Frizzell M, Larsen PR, Field JB
Spontaneous hypoglycemia associated with chronic renal failure.
Diabetes 22: 493 (1973)

22) Fröhlich J, Hoppe-Seyler G, Schollmeyer B, Mayer HB and Gerok W
Possible sites of interaction of renal failure with aminoacid utilization for gluconeogenesis in isolated perfused rat liver.
Europ.J.Clin.Invest. 7: 261 (1977)

23) Garber AJ
Skeletal muscle protein and aminoacid metabolism in experimental chronic uremia in the rat.
J.Clin.Invest. 62: 623 (1978)

24) Garber AJ
The regulation of skeletal muscle alanine and glutamine formation and release in experimental chronic uremia in the rat.
J.Clin.Invest. 62: 633 (1978)

25) Garber AJ, Bier BM, Cryer PE, Pagliara AS
Hypoglycemia in compensated chronic renal insufficiency: substrate limitation of gluconeogenesis.
Diabetes 23: 882 (1974)

26) Garrison JC, Haynes RC jr
Hormonal control of glycogenolysis and gluconeogenesis in isolated rat liver cells.
J.Biol.Chem. 248: 5333 (1973)

27) Geser CA
Die Verwertung von Kohlenhydraten in Streßsituationen.
Infusionstherapie 3: 215 (1973/74)

28) Giovanetti S, Maggiore Q
A low nitrogen diet with nitrogen proteins of high biological value for severe chronic uremia.
Lancet 1: 1000 (1964)

29) Heidland A, Kult J
Long-term effects of essential amino acids supplementation in patients on regular dialysis treatment.
Clin.Nephrol. 3: 234 (1975)

30) Heilmeyer L
Lehrbuch der speziellen pathologischen Physiologie.
Gustav Fischer (1968)

31) Heinze V, Franzen R, Junk K, Tour A, Vonend E
Mannitol und Furosemidtest bei akut ren.Insuffizienz.
In: Med.Therapie bei Nierenerkrankungen (Hrsgb. Kluthe R) Thieme 1971

32) Hems R, Ross BC, Berry MR, Krebs HA
Gluconeogenesis in the perfused rat liver.
Biochem.J. 101: 284 (1966)

33) Heimsoth V
Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsel in der Urämie.
(Hrsgb. Gessler U)
Aesopiusverlag (1977)

34) Hörl WH, Stepinski J, Heidland A
Carbohydrate metabolism and uraemia-mechanisms for glycogenolysis and gluconeogenesis.
Klin.Wochenschr. 58: 1051 (1980)

35) Hörl WH, Sperling J, Heidland A
Enhanced glycogen turnover in skeletal muscle of uremic rats - cause of uncontrolled actomyosin ATPase ?
Am.J.Clin.Nutr. 31: 1861 (1978)

36) Hörl WH, Stepinski J, Schäfer R, Schlenk G, Heidland A
Über die Schlüsselrolle von Serin im Kohlenhydratstoffwechsel bei akuter Urämie.
In: Dittrich P v (Hrsgb) Aktuelle Probleme der Dialyse.
Bindernagel, Friedberg (in press)

37) Hörl WH, Heidland A
Proteolytic digestion: cause of protein catabolism in acute renal failure.
Kidney Int. 17: 407 (1980)

38) Hörl WH, Heidland A
Proteolytische Aktivität im Blutserum von Patienten mit akutem, hpyerkatabolen Nierenversagen.
In: Heberer G (Hrsgb) Postaggressionsstoffwechsel II. Schattauer, Stuttgart New York S. 25 (1980)

39) Hörl WH, Heidland A
Enhanced proteolytic activity - cause of protein catabolism in acute renal failure.
Am.J.Clin.Nutr. 33: 1423 (1980)

40) Hörl WH, Heidland A
Glycogen metabolism in muscle in uremia.
Am.J.Clin.Nutr. 33: 1461 (1980)

41) Hörl WH, Kittel R, Heidland A
Effects of high doses of leucine and ketoleucine on glycogene and protein metabolism in acute uremia.
Am.J.Clin.Nutr. 33: 1468 (1980)

42) Hörl WH, Stepinski J, Gantert C, Heidland A
Zur Pathogenese des Proteinkatabolismus bei akutem Nierenversagen.
In: Dittrich P v (Hrsgb) Aktuelle Probleme der Dialyse. Bindernagel, Friedberg (in press)

43) Iles RA, Cohen RD, Rist AH, Baron PG
The mechanism of inhibition by acidosis of gluconeogenesis from lactate in rat liver.
Biochem.J. 164: 185 (1977)

44) Jennette JC, Goldmann ID
Inhibition of the membrane transport of folates by anions retained in uremia.
J.Lab.Clin.med. 86: 834 (1975)

45) Kapp JP, Duckert F, Hartmann G
Plateless adhesiveness and serum lipids during and after intralipid infusions.
Nutr.Metab. 13: 92 (1971)

46) Katz AI, Emmanouel DS
Metabolism of polypeptide hormones by the normal kidney and in uremia.
Nephron 22: 69 (1978)

47) Kemp BE, Clark MG
Adrenergic Control of the cyclic-AMP dependent proteinkinase and pyruvatkinase in isolated hepatocytes.
J.Biol.Chem 253: 5174 (1978)

48) Kramer HJ, Krück F
Experimentelle Befunde zur Pathogenese der urämischen Intoxikation unter besonderer Berücksichtigung des zellulären Elektrolyttransportes.
In: Aktuelle Probleme der Dialyseverfahren und der Niereninsuffizienz (1975) (Hrsgb Dittrich P)
Bindernagel, Friedberg

49) Kuku SF, Jaspan JB, Emmanouel DS, Zeidler A, Katz AI, Rubenstein AH
Heterogenity of plasma glucagon. Circulating components in normal subjects and patients with chronic renal failure.
J.Clin.Invest. 58: 742 (1976)

50) Massry SG, Goldstein DA
Role of parathyreoidal hormone in uremic toxicity.
Kidney Int. (Suppl. 8) 13: S 39 (1978)

51) Matthews C, Heimberg KW, Ritz E, Agostini B, Fritzsche J, Hasselbach W
Effect of 1.25 dihydroxycholecalciferol on impaired calcium transport by the sarcoplasmic reticulum in experimental uremia.
Kidney Int. 11: 227 (1977)

52) Montgomery CM, Webb JL
Metabolic studies on heart mitochondria II. The inhibitory action of parapyruvate and the tricarboxylic acid cycle.
J.Biol.Chem. 221: 358 (1956)

53) Munro UR
Influence of protein and amino acid supply on tissue function and metabolism.
Anästhesiologie und Wiederbelebung 58: 20 (1972)

54) Peitzmann SJ, Agarwal BN
Spontaneous hypoglycemia in end-stage renal failure.
Nephron 19: 131 (1977)

55) Rittmeyer P
Klin.Probleme der parenteralen Ernährung.
In: Die Bausteine der parenteralen Ernährung
(hrsg. v. Beisbarth H, Horatz K, Rittmeyer P)
Enke Stuttgart (1973)

56) Renner D, Heintz R
Metabolic changes in uremia.
Proc. 4th Int.Cong.Nephr.Stockholm 1969
2: 248, Karger Basel (1972)

57) Reaven GM, Reaven PD
Development of fasting hyperglycemia in uremic rats.
Metabolism 26: 1251 (1977

58) Richards PCL, Brown BJ, Thompson E
Synthesis of phenylalanine and valine by healthy
and uremic man.
Lancet 2: 128 (1971)

59) Rose WC
Amino acid requirements of man.
Federation Proc. 8: 546 (1949)

60) Rutsky EA, McDaniel HG, Tharpe DL, Ginger A, Pek S
Spontaneous hypoglycemia in chronic renal failure.
Arch.Intern.Med. 138: 1364 (1978)

61) Sarre H
Nierenkrankheiten.
Georg Thieme, Stuttgart (1976)

62) Schloerb P
Essential amino acid administration in uremia.
Am.J.Med.Sci. 252: 650 (1966)

63) Schultis K, Beisbarth H
Posttraumatic energy metabolism.
In: Parenteral nutrition (hrsg. von Wilkinson AW)
Churchill London (1971)

64) Schwander DB, Kohlschütter B
I. v. Ernährung und Intensivpflegebehandlungs-
stationen.
Infusionstherapie 3: 185 (1973/74)

65) Sherwin RS, Bastl C, Rinkelstein FO, Fisher M, Black H, Hendler R, Felig P
Influence of uremia and hemodialysis on the turnover and metabolic effects of glucagon.
J.Clin.Invest. 57: 722 (1976)

66) Snyder D, Pulido LB, Kagan A
Dietary reversal of the carbohydrate intolerance in uremia.
Proc.Eur.Dial.Transplant.Assoc. 5: 205 (1968)

67) Soman V, Felig P
Glucagon and insulin binding to liver membranes in a partially nephrectomized uremic rat model.
J.Clin.Invest. 60: 224 (1977)

68) Thölen H, Bigler F
Pharmacological studies on acetoin and 2-3 butylenglycol.
Med.Klin.Uni. Basel (1961)

69) Walser M
Ketoacids in the treatment of uremia.
Clin.Nephrol. 3: 180 (1975)

70) Walser M, Chantz RF
The effect of ketoanalogues of essential aminoacids in severe chronic uremia.
J.Clin.Invest. 52: 678 (1973)

71) Waterlow JC
The assessment of protein nutrition and metabolism in the whole animal, with special references to man.
In: Mammalian Protein metabolism Bd.III (hrsg. von NH Munro) Academic Press, New York (1969)

72) Westervelt FB
Abnormal carbohydrate metabolism in uremia.
Am.J.Clin.Nutr. 21: 423 (1968)

73) Wilkinson JH, Fujimoto Y, Senesky D, Ludwig GD
Nature of the inhibitors of lactate dehydrogenase in uremic dialysates.
J.Lab.Clin.Med. 75: 109 (1970)

74) Wilkinson R, Muckle TJ, Kerr DNS
Dextran nephrosis: Renal changes in three patients with acut tubular necrosis given low molecular weight dextran (LMWB) during the oliguric phase.
Proc.Europ.Dialys.transpl.ASS. 2: 320 (1965)

Herrn Professor Dr. A. Heidland möchte ich herzlichst für die bereitwillige Überlassung meines Dissertationsthemas danken.

Herrn Professor Dr. K. Kochsiek danke ich für die freundliche Übernahme des Korreferates.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med., Dr. rer. nat. W.H. Hörl, der durch seine Anregungen, seine ewige Hilfsbereitschaft und seine Diskussionsfreudigkeit immer wieder Anlaß zu neuen Reflexionen gab.

L e b e n s l a u f

Zuname:	von der Osten
Vornamen:	Wolfram August
Geburtstag und -ort:	03.04.1951 Rotenburg i.Hann.
Religion:	r.kath.
Eltern:	Polizei-Hptmstr i.R. Ernst von der Osten und Elisabetha geb. Kuhn
Personenstand:	verheiratet seit 23.05.1980 mit Margit geb. Thiel, geb. 04.09.1959 in Merzig
April 1957 - April 1962	Volksschulen Serrig und Nennig
April 1962 - Somm. 1970	Humanist. St.Josef-Gymnasium Biesdorf/Eifel (Internatsschüler)
01.06.1970	Abitur
15.08.1970 - 30.09.1970	Krankenpflege-Praktikum Kreiskrankenhaus Saarburg
01.01.1971 - 30.06.1972	Grundwehrdienst Bundeswehr
15.07.1972 - 14.10.1972	Kreiskrankenhaus Saarburg
15.10.1972 - 30.09.1973	Studium 2 Sem. Physik Univ. Saarbrücken
01.10.1973 - 31.03.1975	Studium 3 Sem. Sozialwissenschaften Universität Bochum
01.04.1975 - 31.03.1980	Studium 10 Sem. Humanmedizin Universität Würzburg
21.04.1980 - 22.03.1981	"Praktisches Jahr" 2 Semester Lehrkrankenhaus Aschaffenburg
06.05.1981	Staatsexamen Universität Würzburg
11.05.1981	Approbation als Arzt
01.06.1981 - 31.12.1981	Assistenzarzt Caritasklinik St.Theresia Saarbrücken, Chirurgische Klinik
ab 01.01.1982	Assistenzarzt Städtisches Krankenhaus Saarlouis, geburtshilfliche und gynäkologische Abteilung.

8700 Würzburg, den 15.09.1982

Wolfram von der Osten

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80